

07.08.98

日 本 国 特 許 庁
PATENT OFFICE
JAPANESE GOVERNMENT

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

REC'D	21 AUG 1998
WIPO	PCT

出 願 年 月 日
Date of Application:

1997年 7月14日

出 願 番 号
Application Number:

平成 9年特許願第205235号

出 願 人
Applicant (s):

日本ハム株式会社

3

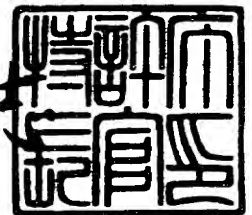
09/462740

PRIORITY DOCUMENT

1998年 7月24日

特許庁長官
Commissioner,
Patent Office

伴佐山 建志



出証番号 出証特平10-3058529

【書類名】 特許願

【整理番号】 9707NH53

【特記事項】 特許法第30条第1項の規定の適用を受けようとする特
許出願

【提出日】 平成 9年 7月14日

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 A01K 67/00
C12N 15/12

【発明の名称】 トランスジェニックマウス

【請求項の数】 3

【発明者】

 【住所又は居所】 茨城県つくば市緑ヶ原3丁目3番 日本ハム株式会社
 中央研究所内

 【氏名】 村上 博

【発明者】

 【住所又は居所】 茨城県つくば市緑ヶ原3丁目3番 日本ハム株式会社
 中央研究所内

 【氏名】 藤村 達也

【発明者】

 【住所又は居所】 茨城県つくば市緑ヶ原3丁目3番 日本ハム株式会社
 中央研究所内

 【氏名】 高萩 陽一

【発明者】

 【住所又は居所】 茨城県つくば市緑ヶ原3丁目3番 日本ハム株式会社
 中央研究所内

 【氏名】 豊村 浩司

【発明者】

 【住所又は居所】 茨城県つくば市緑ヶ原3丁目3番 日本ハム株式会社
 中央研究所内

【氏名】 重久 保
【特許出願人】
【識別番号】 000229519
【氏名又は名称】 日本ハム株式会社
【代理人】
【識別番号】 100085486
【弁理士】
【氏名又は名称】 廣瀬 孝美
【提出物件の目録】
【物件名】 明細書 1
【物件名】 図面 1
【物件名】 要約書 1
【包括委任状番号】 9000995

【書類名】 明細書

【発明の名称】 トランスジェニックマウス

【特許請求の範囲】

【請求項1】 ヒトの補体制御因子（DAF/CD55）の遺伝子を有し、当該ヒトの補体制御因子を血管内皮細胞に発現しているトランスジェニックマウス。

【請求項2】 ヒトの補体制御因子（DAF/CD55）を全臓器の血管内皮細胞に発現している請求項1記載のトランスジェニックマウス。

【請求項3】 ヒトの補体制御因子（DAF/CD55）の遺伝子上流側にブタ補体制御因子（pMCP）プロモーターを有する請求項1又は2記載のトランスジェニックマウス。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明はトランスジェニックマウスに関する。より詳細には、ヒトの補体制御因子（DAF/CD55）の遺伝子を有するトランスジェニックマウスに関する。

【0002】

【従来の技術】

近年、動物臓器をヒトへの移植（異種移植）に供するための研究が欧米を中心に盛んになってきている。臓器を提供する動物としては、ヒトに最も近い点でサルが好ましいが、サルは希少で知性の高い野生動物であることから、サルの利用は困難な状況にある。そこで、家畜、中でも臓器サイズ、形態がヒトに近いブタの臓器を利用するための研究が主になりつつある。

しかし、ブタの臓器をヒトに移植した場合には急激に（数分のうちに）強い拒絶反応（超急性拒絶）が起こり、移植した臓器は機能を失ってしまうことが知られている。

このような現象は一連の反応の結果として生じると考えられている。即ち、（1）ヒトの血液中にはもともとブタの細胞に対する抗体（自然抗体と呼ぶ）が存在するので、ヒトの体内にブタの組織が移植されると、自然抗体がブタの組織を認識し抗原抗体複合物が作られる。（2）抗原抗体複合物はヒトの血清中に含ま

れる補体を活性化して補体カスケード反応を惹起させる。即ち、その抗原抗体複合物にまずC1が、続いてC4、C2が反応し、それらはC3転換酵素を形成する。C3転換酵素はC3を活性化し、C3bとC3aに分解する。C3bはブタ組織の細胞膜表面に結合するとともに、C5転換酵素を形成することでC5を活性化しC5bとC5aに分解する。C5bも膜に結合し、その後連続的にC6、C7、C8、C9と補体分子は反応して行く。(3) 補体カスケード反応の結果として膜攻撃複合体 (Membrane Attach Complex: MAC) が作られ (古典経路と称する)、移植されたブタの臓器をMACが侵襲すると共に血栓も形成される。(4) また、古典経路と共に代替経路と称する補体カスケード反応のあることも知られている。代替経路の場合でも、C3ステップ以降は上記と同様のカスケード反応が行われ、最終的にはMACが形成される。

Miyagawa, Sら (TRANSPLANTATION, 46(6), 825-830, 1988) は、(1) 異種移植された臓器や器官の超急性拒絶は古典経路及び／又は代替経路による補体カスケード反応の惹起により生じる；(2) CVF (cobra venom factor) の事前投与によりC3を欠損させておけば超急性拒絶を生じないと報告した。このことから、C3ステップで補体カスケード反応を阻止する膜結合型の因子であるDAF及び／又はMCP、特にレシピエント種と同種のDAF及び／又はMCPを発現する動物の作成が望まれていた。

【0003】

そこで、ブタの臓器にヒトのC3転換酵素を分解する作用をもつ補体制御因子であるhDAF (CD55) を発現させたトランスジェニックブタの開発が試みられている (ARIELLA M. ROSENGARDら TRANSPLANTATION. Vol.59, No.9, 1325-1333, 1995；G. Byrne ら Transplantation Proceedings, Vol28, No.2, 759, 1996)。

しかし、超急性拒絶反応を完全に抑制することができるかどうかは現在まで明らかになっていない。今後さらに1) 必要な組織に必要な量のhDAFが発現できているか、2) 別の補体制御因子の発現などhDAFの発現以外の要素が複合して必要ではないか等を検討する必要がある。即ち、超急性拒絶抑制方法を開発するためには、解明すべき多くの課題が残されている。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】

上述の不明な点を解決するためには、ブタより取り扱い易い小動物実験モデルを開発し、種々の検討をすることが急務である。特に、目的とする臓器や組織に適切な量のhDAFを発現するトランスジェニックマウスの開発は、この分野の研究を遂行する上で有用と考えられる。

そこで、これまでもhDAFを発現するトランスジェニックマウスの開発が試みられてきている(N.CaryらTransplantation Proceedings, Vol.25, No.1, 400-401, 1993; D.KaganらTransplantation Proceedings, Vol.26, No.3, 1242, 1994)。しかし、開発されたトランスジェニックマウスのhDAFの発現部位、発現量は、報告例ごとに異なる。厳密に言えば、ヒトの補体制御因子(膜結合型の分子としてはDAFの外にも、MCPとCD59がある)を本来、発現しておくべき部位(特に、血管内皮細胞)に発現させたトランスジェニックマウスは開発されていなかった。

上記の課題を解決するために、本発明者らは補体制御因子が本来発現されるべき臓器や組織、特に血管内皮細胞にhDAFを発現するトランスジェニックマウスの作製を検討した。その結果、本発明者らが先に発明したブタ補体制御因子(pMCP)プロモーター(特願平9-142961号参照)を用い、補体制御因子が本来発現されるべき臓器組織、特に血管内皮細胞にhDAFを発現するよう考案した遺伝子をマウスに導入することにより所期の目的を達成できるトランスジェニックマウスを作製できることが判明した。

本発明に係る知見に基づいてなされたもので、本発明は医学や薬学の分野で有用なトランスジェニックマウスを提供することを目的とする。

【0005】

【課題を解決するための手段】

上記の課題を解決するためになされた本発明の要旨は、

- ①ヒトの補体制御因子(DAF/CD55)の遺伝子を有し、当該ヒトの補体制御因子を血管内皮細胞に発現しているトランスジェニックマウス；
- ②ヒトの補体制御因子(DAF/CD55)を全臓器の血管内皮細胞に発現している上記①記載のトランスジェニックマウス；
- ③ヒトの補体制御因子(DAF/CD55)の遺伝子の上流側にブタ補体制御因子(pMCP)プ

ロモーターを有する上記①又は②記載のトランスジェニックマウス；
である。

【0006】

【発明の実施の形態】

上記のように、本発明のトランスジェニックマウスは、ヒトの補体制御因子（以下、hDAFという）の遺伝子を有し、当該ヒトの補体制御因子を血管内皮細胞に発現していることからなる。

係るトランスジェニックマウスは、以下の方法により作製することができる。

まず、プロモーターとhDAFcDNAの結合した導入用遺伝子を調製する。この方法としては、適当なベクター（例えば、pGL-3ベースベクター、pBluescript等）の一部を制限酵素で抜き取り、そのベクター側の末端を常法に準じて平滑化しておく。

一方、hDAFcDNA（例えば、Medof, M.E.ら Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 84, 2007, 1987等参照）より、hDAFをコードする塩基配列の開始コドンの直前から終始コドンの直後の領域を制限酵素で切り取り、その末端を常法に準じて平滑化した後、上記のベクターの平滑化した部分に挿入し、更に適当なプロモーターをhDAFcDNA挿入部位の上流側に挿入する。

上記のプロモーターとしては、hDAFをマウス体内で発現し得るプロモーターであれば特に限定されず、例えば、エンドセリンのプロモーターなどが例示できるが、本発明者らはブタ補体制御因子（pMCP）プロモーターが特に好適であることを見出している。なお、ブタ補体制御因子（pMCP）プロモーターの塩基配列を配列番号1として示す（特願平9-142961号参照）。

かくして得られたベクター（環状遺伝子）より、プロモーターとhDAFcDNAを含む領域を適当な制限酵素で切り出すことにより、導入用遺伝子が調製される。

なお、上記の工程における個々の手法は、常法に準じて行うことができる。

【0007】

トランスジェニックマウスは、上記で調製された導入用遺伝子をマウス受精卵（前核期卵）にマイクロインジェクション法などの慣用の方法で導入し、当該受精卵を必要に応じて培養後、疑妊娠状態にしておいた雌性マウス（レシピエント

マウス)の卵管又は子宮に移植し、産子を得ることにより作製される。

作製された産子がトランスジェニックマウスであることの確認は、後記のドットブロッキング法、PCR法などにより行うことができる。

かくして得られたトランスジェニックマウスは、常法に準じて交配し、産子を得ることにより繁殖させることができる。

後記の実施例に示されるように、本発明で得られたトランスジェニックマウスはhDAF遺伝子を有し、また全臓器の血管内皮細胞にhDAFが発現されていることが確認された。

【0008】

【発明の効果】

本発明によれば、下記のような効果が得られ、医学、薬学などの分野で有用である。

(1) このトランスジェニックマウスの臓器、例えば心臓、肺、肝臓、腎臓などとヒトの血液を接触させるか、又はこれらの臓器を霊長類の動物に移植すれば、hDAFが異種移植に伴う超急性拒絶の回避に有用であることを確認することができる。

(2) 補体制御因子の発現だけでは解決できない超急性拒絶に関する問題点を顕在化させるための研究を行うことが可能となる、即ち、超急性拒絶の回避のためには、補体制御因子の導入と共に、その他の血管内皮の恒常性を維持する因子(例えば、トロンボモジュリンなど)の導入が必要か否かの議論に解答を与えることができる。

(3) このマウスに他の補体制御因子(hMCPとhCD59)を発現するマウスを交配させるなどすれば、それぞれの補体制御因子の相乗効果を検討することも可能である。

(4) 本発明のトランスジェニックマウスの臓器(例えば肝臓、腎臓など)の細胞を培養し、培養細胞を適当な器材装置等に組み入れ、対応する臓器の機能が失調しているヒト患者と体外循環系を介して、接続すれば、失調している臓器の代替や治療として活用することが可能となる。

【0009】

【実施例】

以下、実施例に基づいて本発明をより詳細に説明するが、本発明はこれらの例に限定されるものではない。

実施例 1

①導入用遺伝子の構築

pMCPプロモーターとhDAFcDNAを連結した導入用遺伝子を、下記の要領で作製した。

即ち、pGL-3ベシックベクターより、luc.遺伝子をNcoIサイトとXbaIサイトで抜き取り、ベクター側の末端をT4 DNA polymeraseで平滑化した。第一イントロンを含むhDAFcDNAを、ATG開始コドンの直前のAscIサイトとTAG終始コドンの直後のAccIサイトで切り出し、T4 DNA polymeraseで末端を平滑化し、前述のベクターの末端平滑化した部分に挿入した。ブタゲノムライブラリーのpMCP遺伝子（特願平9-142961号）を含む領域より、プロモーターに相当する部分の約5.4kbをBstEIIとEcoRIで切り出し（配列番号1の塩基配列の2～5392番の配列を有する断片）、T4 DNA polymeraseで末端を平滑化し（配列番号1の塩基配列の2～5397番の配列を有する断片）、前述のベクターのhDAFcDNA挿入部位のすぐ上流にあるSmaIサイトに挿入した（図1参照）。

一方、比較例として、hDAFプロモーターとhDAFcDNAを連結した導入用遺伝子を下記の要領で作成した。

即ち、hDAFのプロモーターは、プロモーターに相当する部分の約3.8kbの領域をHindIIIサイトとAscIサイトで切り出し、末端を平滑化し、前述のベクターのhDAFcDNA挿入部位のすぐ上流にあるSmaIサイトに挿入した（図2参照）。

そして、それぞれの環状遺伝子より、上記プロモーターとhDAFcDNAを含む領域をNotIとEco47 IIIIサイトで切り出し、リン酸緩衝生理食塩水(PBS)にて5 μ g/mlの濃度に調整し、導入用遺伝子として用いた。

【0010】

②トランスジェニックマウスの作成

マイクロインジェクション法による導入用遺伝子の受精卵への導入とトランスジェニックマウスの作成を以下の要領で行った。

即ち、CBAマウスあるいはC3HマウスのオスにC57BL/6マウスのメスを交配させ、産子を得た。このメスを採卵用マウス（ドナー）に供した。ドナーマウスに過排卵処理（PMSGとhCGの投与）した後、ICRマウスのオスと交配させ、受精卵（前核期卵）を採取した。この前核期卵に、前述の導入用遺伝子（5 μ g/ml）をマイクロインジェクション法により、前核が膨らむのがわかる程度まで注入した。そして、導入用遺伝子の注入された前核期卵を直ちにレシピエントマウスの卵管に移植した、あるいは導入用遺伝子の注入された前核期卵を3日間培養した後にレシピエントマウスの子宮に移植した。そして、産子を得た。なお、レシピエントマウスは予め精管結紮マウスと交尾して疑妊娠状態にしておいた。

【0011】

③トランスジェニックマウスの同定

レシピエントマウスから得られた産子の尾部から常法によりゲノムDNAを抽出し、下記の2方法によりトランスジェニックマウスの同定と選抜を行った。

(1) ドットブロッティング法：供試産子のゲノムDNA(10 μ g)をメンブレンに固定し、予めビオチンラベルしておいたhDAFcDNAの一部からなる遺伝子とハイブリダイゼスさせた。アルカリホスファターゼを用いた発色反応（スマライト、住友金属社製）を行い、導入遺伝子の組込みの有無を検出し、トランスジェニックマウス（Tgマウス）を同定した。

(2) PCR法：供試産子のゲノムDNAをテンプレートとして、hDAFcDNA由来の塩基配列をセンスプライマー（5'-GGCTGCTGCTGCTGGTGTGTTGT-3'）、アンチセンスプライマー（5'-TCCATAATGGTCACGTTCCCCTTG-3'）に用いたPCR反応を行った（条件94℃ 30秒, 68℃ 2分30秒, 30回）。そして、導入遺伝子の組込みの有無を検出し、Tgマウスを同定した。

【0012】

④トランスジェニックマウスの繁殖

上記でトランスジェニックと同定されたマウスは直ちに、ICRマウスと交配させ、導入遺伝子を持つ産子（以下、TgF1マウスという）を作出した。

【0013】

⑤導入遺伝子の発現の確認（mRNAの発現）

TgF1マウスの各種臓器からmRNAを抽出し、常法のRT-PCR法を用いて、臓器中のhDAF由来のmRNAの発現を調べた。なお、比較例として、hDAFプロモーターとhDAFcDNAを含む導入用遺伝子を導入して得たトランスジェニックマウス及び通常のマウス（非トランスジェニックマウス）についても、各種臓器からmRNAを抽出し、上記と同様な方法でhDAF由来のmRNAの発現を調べた。その結果を図3に示す。なお、図中の記号のB、H、K、Li、Lu、S及びTは、それぞれ脳、心臓、腎臓、肝臓、肺、脾臓及び精巣を意味する。

その結果、pMCPプロモーターとhDAFcDNAを含む導入用遺伝子（図1）を導入して得たトランスジェニックマウスの場合には、検討した臓器（脳、肺、心臓、肝臓、脾臓、腎臓、精巣）の全てにhDAFcDNAに由来するmRNAの発現を示す強いシグナルが認められた（図3のA参照）。このことから、TgF1マウスは全臓器でhDAF由来のmRNAを発現していることが明らかになった。

一方、hDAFプロモーターとhDAFcDNAを含む導入用遺伝子（図2）を導入して得たトランスジェニックマウスの場合には、精巣と脳のみhDAFcDNAに由来するmRNAのシグナルが認められたが、その他の臓器では、シグナルは認められないか、認められても非常に弱いものであった（図3のB参照）。

なお、非トランスジェニックマウスの場合には、いずれの臓器においても、hDAFに由来するmRNAの発現は認められなかった（図3のC参照）。

また、ヒトリンパ球細胞株（K562）について同様の分析をした場合には、hDAFに由来するmRNAの発現が認められた（図3のCの最右端参照）。

【0014】

⑥導入遺伝子の発現の確認（蛋白質の発現）

TgF1マウスの各臓器の凍結切片を作成し、ビオチン化抗hDAFモノクローナル抗体を反応させた。その後、ペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジンを結合させた。これに発色基質（ジアミノベンジジン；DAB）を作用させ、顕微鏡観察によりhDAF蛋白質の発現強度および発現部位を検討した。その結果を表1に示す。

表1に示されるように、pMCPプロモーターとhDAFcDNAを含む導入用遺伝子を導入して得たトランスジェニックマウスの場合には、観察した全臓器でhDAFの強い発現が認められた。発現の確認された臓器は、心臓の心房筋、心室筋と中小・毛

細血管内皮、腎臓の糸球体、尿細管と中小・毛細血管内皮、肝臓の肝細胞、胆管上皮と中小・毛細血管内皮、肺の肺胞、気管上皮と中小・毛細血管内皮、腸の腸粘膜上皮と中小・毛細血管内皮、膵臓の外分泌腺細胞、ランゲルハンス島、膵管上皮と中小・毛細血管内皮、脾臓の白脾臓、赤脾臓、脾柱と中小・毛細血管内皮、脳の大脳皮質と髄質、小脳皮質と髄質と中小・毛細血管内皮、精巢の精上皮細胞、間細胞、精子と中小・毛細血管内皮、及び末梢神経であり、全臓器にわたっていた。

一方、hDAFプロモーターとhDAFcDNAを含む導入用遺伝子を導入して得たトランスジェニックマウスの場合には、精巢のみにhDAFの発現が認められた。しかし、精巢の血管内皮細胞には発現が認められなかった。

【0015】

【表1】

表1

臓 器		プロモーター		通常マウス
		pMCP	hDAF	
心臓	心房筋	++	-	-
	心室筋	+	-	-
	中小・毛細血管内皮	++	-	-
腎臓	糸球体	++	-	-
	尿細管	-	-	-
	中小・毛細血管内皮	++	-	-
肝臓	肝細胞	±	-	-
	胆管上皮	++	-	-
	中小・毛細血管内皮	++	-	-
肺	肺胞	++	-	-
	気管上皮	++	-	-
	中小・毛細血管内皮	++	-	-
腸	腸粘膜上皮	+	-	-
	中小・毛細血管内皮	++	-	-
膵臓	外分泌腺細胞	+	-	-
	ランゲルハンス島	+	-	-
	膵管上皮	+	-	-
	中小・毛細血管内皮	++	-	-
脾臓	白脾臓	±	-	-
	赤脾臓	±	-	-
	脾柱	+	-	-
	中小・毛細血管内皮	++	-	-
脳	大脳皮質	++	-	-
	髄質	++	-	-
	小脳皮質	+	-	-
	髄質	++	-	-
	中小・毛細血管内皮	++	-	-
精巣	精上皮細胞	++	±	-
	間細胞	+	±	-
	精子	++	++	-
	中小・毛細血管内皮	++	-	-
末梢神経		+++	-	-

【0016】

以上のことから、pMCPプロモーターとhDAFcDNAを含む導入用遺伝子（図1）を導入して得たトランスジェニックマウスは、多臓器とその血管内皮細胞に、hDAFcDNAに由来するmRNA（図3のA参照）及びhDAF蛋白質（表1参照）を発現していることが分かった。

【0017】

【配列表】

配列番号：1

配列の長さ：5418

配列の型：核酸

鎖の数：2本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：Genomic DNA

直接の起源：λFIXIIブタゲノムファージライブラリー

配列

GAATTCTGCG TACACGGGGC CCCGGTGGCT TTACATCATC GCTACAGCGA	50
CATGGGATCC GAGCCGTGTC TACAACCTAC ACAACAACGC CAGATCCTTA	100
ACCCAATGCA TGAGGACAGG GCTCAAACCT GCGGCCTCAT AGATGCTAGT	150
CAGATTCGTT TCTGCTGAGC CACAATGGGA ACTCCTAATT CTAGATCGAT	200
CTAGAAATTAG GAGTTCCCAT TGTGGCTCAG CAGAAACGAA TCTGACTAGC	250
ATCTATGAGG CCGCAGTTTG AGCCCTGTCC TCATGCATTG GGTAAAGGAT	300
CTGGCGTTGT TGTGTAGGTT GTAGACACGG CTCGGATCCC ATGTCGCTGT	350
AGCGATGATG TAAAGCCACC GGGGCCCCGT GCTACGCAGA ATTCNTGCAG	400
CCCGGGGGAT CCACTAGTTC TAGCNAGAGA GTTGAAAATT TAAAGAACAT	450
TTCTCCCCTA ATCTCCCAA ATATGGGCAA AGGACAGGTA CCCGTGGCAC	500
TGAAAAAATA CAGGCAAGCA ACCCATGAGT ACATGAAAAG ATGCTCCAGG	550
GTTCCGCCCTA ATGGAAGCCT GAACAATGCC TATCACATCG TGGGTTTCTG	600
AAGAAGTAAC TTAAAGAAAAC TAGAAATTAA ATGGCTTTCT TAGAATGAAA	650
ATTCTCTATC ACAAGGAAAA ATGTTGTATG TTGTTTTTCC CATAATGGAG	700
GTCAGTGGGC GCTATGATTA ACAAATATCT GATGCCTGTG ACTTTTAAAT	750
TGCAAGAAAT CTGTGNAGTT TTTTATTAT CTATGGGAAA TATTGCATAT	800
ATTAATGATA TCACCTAACT TGTATTATTG AGCAATTCTG TCCACATCTG	850
GCCTTTCATC TTTTCATCTAA AAAGCAGGGG CTGGACCAAC TGACCTTCAG	900
TGCCATTCTT ACTGCTAACA TTCTAATTTT GTTTTTATTG CCTTTTGTGTA	950

CAAAAGTGTG AGAGAAGTCA TTTTAAGTCT GTGACATTAA ATGTAATTTT	1000
CTGTCTCCAG CATTATAATA AGAATCAAAG ATTTAATCTA ATACACCGAT	1050
GGAATATTGT TTATAACGTA TTTACTGTTT CAAGCCTTCA AAACCAAGAG	1100
AAAACAAAAT GAGTACCTGT TCCTTCTGAG AAATGCCCTT CTTCTGTTC	1150
AGAATCCCTG TGTATAACAG GAATGCTCTC GAGTTAACAG CCAAGTAAGA	1200
GGCCCATCGG CTGGCAGGTG CCCACCTAGC TAGGTGCAAG CAGAGGTGGC	1250
AGTGCTCCCA GGACCAACAG CAGAAACATG GCTTAACTAT CCTGTGTTTA	1300
GCAGTTCTCT TACGGGTTTT CACAACACCT AAAAAGCGCC CTGATGGGGT	1350
AAAGCCTCTG CCTTCATGCT GCTGCCCCGT CTCTGAAAAG CAGGACGTAA	1400
ATATACAATT TAGGAGGTAA GAGGGACATC TGCCATTGTT TTCTTTAACA	1450
CAGTCAGCCT CTGTTTAATG AATCCCAGCC ACCTCCCTCC ACCTACCATC	1500
ATTCCTAAGG TTTGCAGAGG AGCTGCCATA GAGCTCAAAA CACGGWNTAC	1550
AGACAAGCAT NTTCTCCATC CCTCCTCATC TTCTCACAGG CCGCTTGACA	1600
ACATCTCTAG GAGGGGGTGG AGGCGCCACC AGTGTTTGAG CCCCTCGTTC	1650
ACGCAAAGCC TTGACTCTGG AGTTCTAGTC CTCGCGGGAC CTTAGGAAGT	1700
TCACGGTCAA TACTCCGCCC TTGGGCTCAG AACTAAGAG GATCTCCGGG	1750
TAAAGAGATA GACAGTAGCT CCATGCCTGA TTTAGGAAAA CTGTCCGTAC	1800
AGACAGTTGT AATTCATTCC TTTCAGAGAC AAATCCTGCT CTCTTCCTAG	1850
TTCCTGAAGT CATTAAAAATC AAAAGCTCTC AGAAACGTCC CAGCATTTGC	1900
TAAGTCCACG CTGGGGGAGG ATGGGCAGAG CCGTGTTTCCG CGCGTTTGAC	1950
AGCAACACCC ACTTATTTCA TTYAGTATCC ATAGGCATAT ATCATGCACC	2000
TGGTATAGGC CTCTCTCTCA GCACTGGAGA TACAGCAAGA AAACGCTATT	2050
CCTGCCCCAT GGAGCTTGTW MARAAAAATA GANNNAAAAA CCCTTTANAA	2100
ANGGAAGCTR CCNGMTGGGN CMAAGTNAAG ATTAAGTAAA AAGAAAWCCG	2150
TGARAAACC CTTCAAGTAT ATTAAGAAAG AAANTAGCTT GATGAAACCC	2200
CAGGTGTANA AATTNNCACT AAAACAATGS TCCAATTAA AACCCCMMAA	2250
TTCATGGAAT TTACTIONAGT ANCCTGNAAC TAGGRAAAACC AAATTCTAGC	2300
CNATAGTTTC TCCCTTCTAA ATNTTCTCAT GAGAAAACAA YTTATTTCCA	2350
AAGANATTTT CCATGATGGG GAAAGTTTTT TTCAACTTTG CTCAGGTATA	2400

AACTGAANAT	ACAGCATTAA	AGTAAAGATA	GTTGCAGAGA	CCACCAAATA	2450
GATACCCGTT	TTCANAAAAA	GTGCCAACAT	GGAGCCAGAG	AACATTTCGG	2500
TTACATCACG	CTTTTACGGC	TTTGAAAATT	AACAGAGATG	ATAATCCCCC	2550
MCCTTGGGTT	TCCNACTCCN	TCCCTCCTNA	ATTTTACCTC	CTTTAATTGT	2600
CATCATGTCT	GGAGATTATA	ATCCAAGATA	CTAAGATGTT	TATNTCATAc	2650
ATCGCCTCCA	CACAGTGTGT	CTNANAAGCT	CTTGCAAGAA	TCCAAACATT	2700
GTGCTGGTCT	GGGTAGAAAA	GGAAATTCCA	TGGTTTGTG	AACCCAGGAA	2750
CTCTTCAGTA	CATCTCCGAG	GTAAAACTGT	TTAAATACAA	TTAAAGTTCT	2800
ACAGTTAAAG	GGTACCCTCC	TCCACTGTTG	GTGGGAATGT	AAACTGGTAC	2850
AATCACTATG	AAAAACAGGA	TGGAGGTACT	TCAGAAAAATG	AAGTATAGAA	2900
CTACCACAGG	ATCCAGCACT	CTCACTCCTG	GGCACCTATC	AGGACAAAAA	2950
ATTGCTGCA	AAAGATGCAT	GCACCCATAG	CTATGTTTAC	TGCAGCAGCA	3000
TTCAACAATAG	CCAAGACATG	GAAACGACCT	AAATGTCCAT	CAACAGCTGA	3050
ATGCATTAAG	AAGACGTGGT	ATATACACAC	AATGGAATAC	TACTCAAGTC	3100
ATGAAAAAGA	ACAAAAGAAT	GCCATTTGCA	GCAACATGGC	ATGGCTGGAA	3150
CTAGAGACTC	ATGCTAAATG	AAGTCAGTGA	GAAAGAGAAA	GACAAATACC	3200
ACATGATATC	ACTTATATCT	GGAATCTAAT	ATACGACACA	CATGAAACTT	3250
TCCACAGAAA	AGAAAACCTN	CATGGACTTT	GGAGAACAGA	CTTGTGGTTT	3300
CSCCAAGGGG	GGARGGGGGG	AAGACCGTGG	GAGGACTGGG	GAGCTTTGGG	3350
GTTAATAGAT	GCAAAACTAT	TGCCTTTNGA	ATGGATAAGC	CAATGGGATC	3400
CTGCTGTACC	AGAACCRGGG	AACTATANCT	AGTCACTTGC	KNTAGAACAT	3450
GATGGAGGAT	NATNTGAGAN	AAAGAATATN	TGTGTGTGK	AGAGAGAGAG	3500
AGACTGGCTC	CACTTTGCTG	TATAGTAGAA	AACTGACAGA	ACACCGTAAA	3550
CCATTAAATA	AAAATCCAGT	AAAAATTTAA	AAATAAAAAAC	ACACATTGGT	3600
TCCAATGTGT	TTAAAAGCAA	TAAAGTTCTA	TAATTGCAGC	AGATGCATCT	3650
GAGGTTTACA	CGGAGAGCTT	CCATTCCTTA	CCATCCTCTC	ATTCCTTAAC	3700
TCTAATGTGA	TACAGGTTCT	ATTCTCACCA	TTCTATGAAC	AAAAGAGCAG	3750
CTGATTTACA	GGTTGGATTT	TTCAAAAAAA	AAAATTTCTT	TACCAGGATC	3800
CCAAATGTAA	CAAAGGGTCA	ATATAGAAAA	CTTAAAAAGC	ACAGCCAAAAG	3850

AGAAATATAC ATAAGCCTTT CAACTATTAA TTTTGATTAA TATCCAACGA	3900
ATCTCTTTTT AAGTGTATCA ATATATTATT CATTTTAATA AAAGAAATTG	3950
CAAGAGGCAC TTGCTTTTTT TGCTTACAAA TACGGTTTCT CAAATCGATT	4000
TTTTTTATAT ACTGTTTGCA TAGAATTTCA ATCCATAAAG CTACCTATTG	4050
AAAATTCCTT ATATTTCTGC TAAACACTTA AGGGCTTATA TTTTCTCCAA	4100
ATTTATACAT CCTTGCTCAC AGTTCTGACG ATGTCTTTGG GATAAACTCT	4150
AAATGGAAC AGAGGTTTAA AAGTTATGTC CATTTAAAAC TTTTAACACA	4200
AAAAAAGGTA AGTTAAAAAG TAAAAGTTTG GGGAGGCTGC TGGTCGCCCC	4250
CCCAACATTG GCTGACATTT TTATTCTTTG ACAACAAATA GGAAGAAAAT	4300
GTCAATGTCT TTTTTACTG CTTAATACTG GTCATGTTAC TTTTCTTCC	4350
TTTTGCTAAT CATAAGGCT TACTCACAAAC TCTACAAAAA AATCTTACTC	4400
ATTCTAATG TTCCTTCATT GAGAGATTGG TTTGCCGGAA ACGTTCTCAC	4450
TCTCACCAAG TCCCAACAGT CCCAACTCTA ACGACGGTCG CTGCTTCCAG	4500
AAATACGGCA CTTAAGGCAC CCTCGTCCTT ACCTTTTTCA TGCATGTGTA	4550
TTTCATTTTC AATAAAACAT TGAGTTGTTT CAAGGCCAGA CCATAGAGTT	4600
GAGCCCCAAC ATGCTAGTGG CCCAGTGTGA TGTAATAATT TACCTTCCCA	4650
GGGGTCCTCT CCGGGGGGGT ACAGGCGAGA CTAAGTGACT TTAAGCTGTT	4700
GGGAGAACAA TGGCCAAACC TTTCGTGATT TTGAAATCTA TCAGGCCACG	4750
AGACACTTCG GTAGCGGACG CTCAACCCTG GGAATCCCAA CTATTGTCCC	4800
AAATTTTGCC TGA CTCGTGC CAAAGATTGA GCCAGGGCCC GGGTGTCCAG	4850
GCAGTCTGCA GTGCCCCAGT CCCCACCAGA GCCCTGAAGG GTGTCGGGCC	4900
CCACGAAACC GCTGCCCCGG CTCTAGGGTT TCTGTTTTCA GGTGCTGCG	4950
CTTTATTCTC TAATTCAGCG TTCCCGAAAG AGACCATGAG GACCCGCCCA	5000
GTGTCCTTTA CACCTTCCCG TGTCGGGTGG CGACAGCTGT TTACGAAGAA	5050
GAGTGCACCA CCCTTTCCCG CAAGCCGCAG CGGTTAGTTC CGCAGAAGGA	5100
GGAGCCAGGG CGTCGGGGCC GAGCTGGGAG AGAGGCCCGG CAGCGGGCGC	5150
CGCGGAGCAG CAAGGGCGTC CCTCTCTCGG CCGGAGCCCC GCCCCGCCCC	5200
GCCCCACGG CCCC GCCTTG CGGCCCCGCC ATTGGCTCCG CCGGGCCCTG	5250
GAGTCACTCC CTAGAGCCAC TTCCGCCAG GCGGGGGCCC AGGCCACGCC	5300

CACTGGCCTG ACCGCGCGGG AGGCTCCCGG AGACCGTGGA TTCTTACTCC	5350
TGCTGTCGGA ACTCGAAGAG GTCTCCGCTA GGCTGGTGTC GGGTTACCTG	5400
CTCATCTTCC CGAAAAATG	5418

【図面の簡単な説明】

【図1】

PMCPプロモーターとhDAFcDNAを含む導入用遺伝子の構造を示す図である。

【図2】

比較として用いた、hDAFプロモーターとhDAFcDNAを含む導入用遺伝子の構造を示す図である。

【図3】

TgF1マウス、比較のトランスジェニックマウス及び通常のマウス（非トランスジェニックマウス）の各種臓器中のhDAF由来のmRNAの発現を示す図である。

なお、（A）はTgF1マウスの各種臓器に発現されたmRNAを示す図であり；

（B）は比較のトランスジェニックマウス（hDAFプロモーターとhDAFcDNAを含む導入用遺伝子（図2）を導入して得たトランスジェニックマウス）の各種臓器に発現されたmRNAを示す図であり；

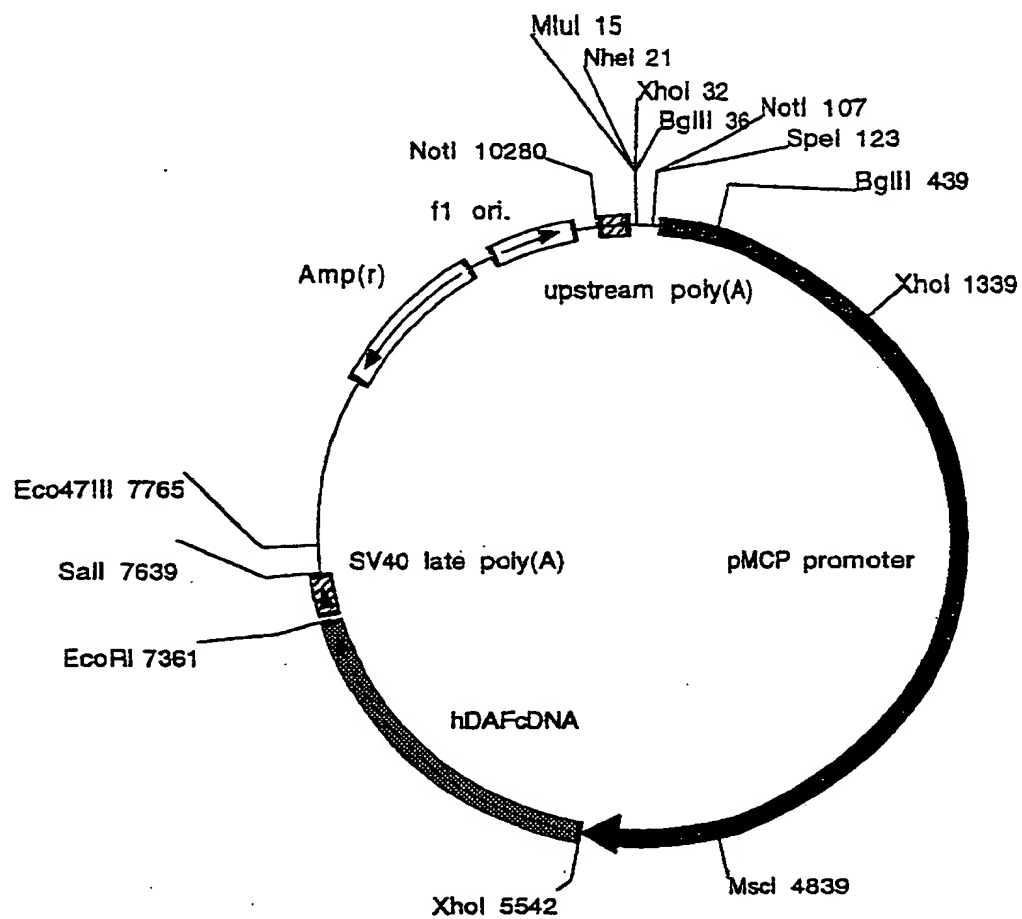
（C）は非トランスジェニックマウスの各種臓器に発現されたmRNAを示す図であり、最右端はヒトリンパ球細胞株（K562）におけるhDAF由来mRNAの発現を示す。

また、図中の記号のB、H、K、Li、Lu、S及びTは、それぞれ脳、心臓、腎臓、肝臓、肺、脾臓及び精巣を意味する。

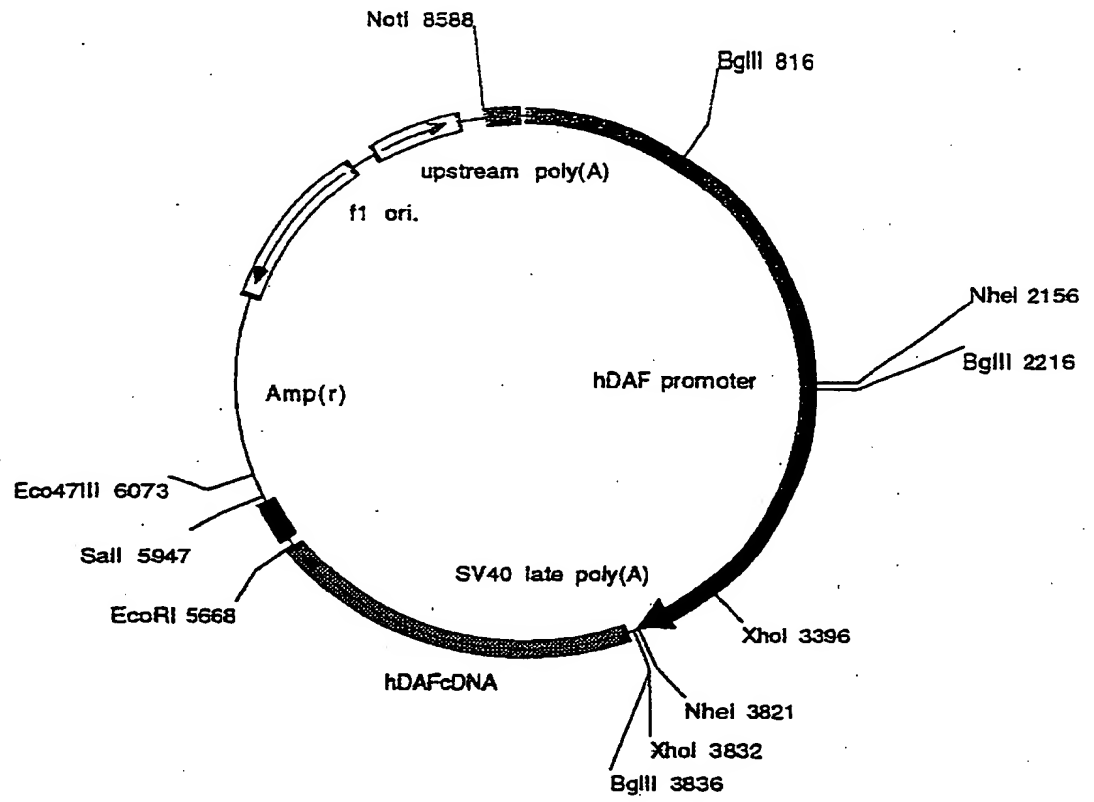
【書類名】

図面

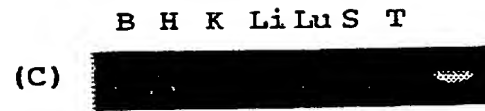
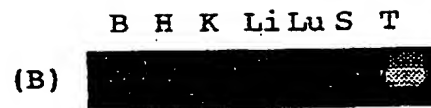
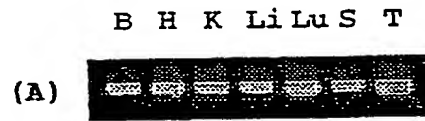
【図1】



【図2】



【图3】



K562

【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 トランスジェニックマウスを提供する。

【解決手段】 本発明は、ヒトの補体制御因子（DAF/CD55）の遺伝子を有し、当該ヒトの補体制御因子を血管内皮細胞に発現しているトランスジェニックマウスである。本発明のトランスジェニックマウスは、医学、薬学などの分野における実験動物として有用である。

【選択図】 なし

【書類名】 職権訂正データ
【訂正書類】 特許願

<認定情報・付加情報>

【特許出願人】
【識別番号】 000229519
【住所又は居所】 大阪府大阪市中央区南本町3丁目6番14号
【氏名又は名称】 日本ハム株式会社
【代理人】 申請人
【識別番号】 100085486
【住所又は居所】 大阪府大阪市北区西天満5丁目13番3号 高橋ビル 北3号館6階 廣瀬特許事務所
【氏名又は名称】 廣瀬 孝美

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [000229519]

1. 変更年月日 1990年 8月11日
[変更理由] 新規登録
住 所 大阪府大阪市中央区南本町3丁目6番14号
氏 名 日本ハム株式会社
